

ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЕ РАВНОВЕСИЕ

А.Е. ЗАКАРЯН, С.А. ГОНЯН, Н.А. САРКИСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики, 375025

Исследовалось влияние противоопухолевых препаратов на свободнорадикальный окислительный процесс и величину окислительно-восстановительного потенциала биологической мишени (БМ). Выяснилось, что исследуемые соединения подавляют процесс перекисного окисления липидов в разной степени, что отражается в уменьшении интенсивности спонтанной хемилюминесценции (ХЛ). Показано, что испытываемые противоопухолевые препараты снижают также величину окислительно-восстановительного потенциала, из чего следует, что они выступают как восстановители окислительных процессов.

Յետազոտված է հակառնուցքային պրեպարատների ազդեցությունը կենսաբանական թիրախի ազատ ռադիկալային օքսիդացման պրոցեսի և օքսիդավերականգնման պոտենցիալի վրա: Բացահայտված է, որ բոլոր հետազոտվող պրեպարատները ճնշում են լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացումը, որը արտահայտվում է քիմիոլումինեսցենցիայի մակարդակի նվազմամբ: Ցույց է տրված, որ հակառնուցքային պրեպարատները իջեցնում են նաև օքսիդավերականգնման պոտենցիալի արժեքը, որից հետևում է, որ նրանք հանդես են գալիս որպես օքսիդացման պրոցեսների վերականգնիչներ:

The influence of some anticancer preparations on free radical oxidative process and redox potential was investigated. It was found out that these preparations suppress lipid peroxidation that is reflected by decrease of chemiluminescence. It was shown that investigated anticancer preparations reduce the value of redox potential therefore they behave as restorer of oxidative processes.

Противоопухолевые препараты - перекисное окисление липидов - спонтанная хемилюминесценция - окислительно-восстановительный потенциал - биологическая мишень

Создание и тестирование противоопухолевых препаратов (ПОП) с последующим выяснением природы и механизмов их действия является одной из актуальных проблем современных медико-биологических наук [3, 5]. Для решения такой задачи важное значение имеет выбор методических подходов и параметров, отражающих природу и механизм влияния изучаемых препаратов на живой организм. Перспективным направлением в этом аспекте может являться изучение свободнорадикального окисления липидов и липидсодержащих структур, а также величины окислительно-восстановительных потенциалов (ОВП) для оценки результативности действия указанных фармакологических соединений [6, 8]. Уровень перекисного окисления липидов, регулирующийся биоантиоксидантной системой организма, и величина ОВП (редокс - потенциал) исследуемых образцов могут рассматриваться как объективный и очень чувствительный показатель состояния организма [10, 7].

Нами исследовалось влияние ряда ПОП на свободнорадикальное окисление липидов и величину ОВП (Еh).

Материал и методика. Для тестирования ПОП в качестве биологической мишени был использован гомогенат мозга крупного рогатого скота в буферном растворе (0,175 М КСl : 0,25 М трисНСl, рН=7,4), приготовленном в соотношении 1:10 соответственно. Гомогенизацию проводили в течение 3 мин с помощью гомогенизатора Потера - Эвельхейма в условиях холода (в присутствии льда).

Были использованы противоопухолевые препараты из различных групп:

1. Алкилирующие: а) сарколизин - как химически чистое вещество, б) циклофосфан - препарат фирмы "Киевмедпрепараты", в) тиофосфамид - препарат фирмы "Мосхимфармпрепараты",

2. Антиметаболиты: а) 5-фторурацил - препарат фирмы "Дарница", Киев, б) фторафур - препарат фирмы "Мосхимфармпрепараты",

3. Вещества растительного происхождения: колхицин - как химически чистое вещество.

Интенсивность СХЛ измеряли на квантометрической установке [1] в импульсном режиме при температуре, близкой к физиологической ($40^{\circ} \pm 0,5$).

Определение величины ОВП осуществляли индифферентным платиновым электродом игольчатого типа [4, 2]. Электродом сравнения служил каломельный полуэлемент. Контакт такого элемента с объектом обеспечивали с помощью трубочек - сифонов, заполненных 3%-ным раствором агар - агара, приготовленным на насыщенном растворе КСl. Значение величины ОВП регистрировали рН-метром-121 после достижения постоянного уровня величины потенциала (10-15 мин).

Изучаемые препараты были использованы в конечной концентрации 10^{-3} М. Полученные результаты подвергались статистической обработке по критерию Стьюдента-Фишера и представлены в виде средних арифметических величин и их среднеквадратичных отклонений, что отражено на графиках и таблице данной работы.

Результаты и обсуждение. Для исследования действия некоторых ПОП

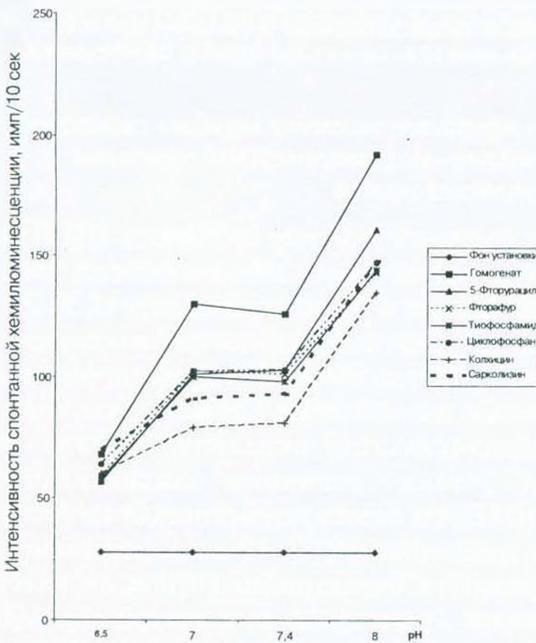


Рис. 1. Влияние противоопухолевых препаратов на спонтанную хемилюминесценцию гомогената мозга при различных значениях рН среды.

на СХЛ биологической мишени при различных значениях рН вначале регистрировали СХЛ гомогената мозга в объеме 2 мл, помещенного в оптическую кювету. Далее к испытываемому образцу добавляли исследуемый препарат. Уровень СХЛ биологической мишени принимали за исходную величину, а изменение ее интенсивности от воздействия противоопухолевых соединений служило мерой для оценки активности испытываемых препаратов.

Как следует из представленных данных, изучаемые ПОП в нейтральной среде (рН - 7,0)

неодинаково уменьшают уровень СХЛ (рис. 1). Наибольшее ингибирующее СХЛ действие наблюдали в случае колхицина (39%), а наименьшее - 5-фторурацила (22%). При изменении рН БМ от слабокислой до слабощелочной наблюдалось усиление СХЛ от 68 ± 2 имп/10сек (рН=6,5) до 192 ± 4 имп/10сек (рН=8,0), то есть, более чем на 282%, что согласуется с литературными данными [9]. При изучении рН-зависимого действия ПОП на СХЛ БМ отмечалось увеличение ингибирующей СХЛ активности исследуемых препаратов. Как видно из рис. 1, наибольшее

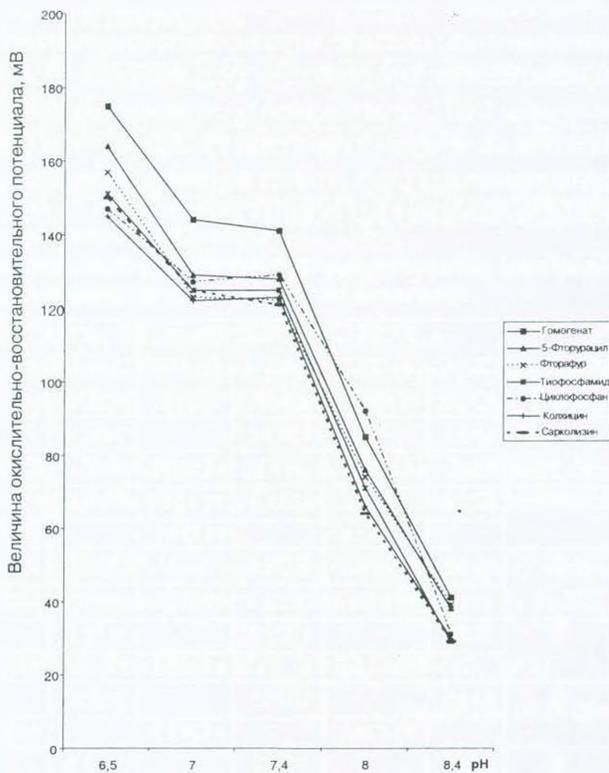


Рис. 2. Изменение величины окислительно-восстановительного потенциала гомогената мозга под действием противоопухолевых препаратов при различных значениях рН среды.

падение интенсивности свечения биологической мишени наблюдается при действии колхицина и фторафура (30% и 25% соответственно), а наименьшее - 5-фторурацила (16%).

Нами исследовалось также изменение величины ОВП БМ при действии изучаемых противоопухолевых соединений. Из полученных результатов (рис. 2) следует, что действие различных противоопухолевых соединений приводит к снижению величины ОВП БМ в разной степени, что указывает на восстановительный характер этих ПОП. Наибольшее угнетение окислительных процессов наблюдается при действии колхицина (15%), а наименьшее - 5-фторурацила (10%) (рН - 7,0). При изучении рН-зависимого действия исследуемых препаратов выяснилось, что с уменьшением значения рН эффект влияния этих препаратов на ОВП ослабляется. Так, при рН - 8,4 сарколизин и колхицин по сравнению с гомогенатом мозга, величина ОВП которого равна $+41 \pm 1$ мВ, вызывают уменьшение редокс - потенциала на 29% и 27% соответственно. При понижении рН до 6,5 величина ОВП БМ увеличивается до $+175 \pm 4$ мВ, однако сарколизин и колхицин, хоть и в небольшой степени, но снова снижают значение редокс - потенциала до $+150 \pm 4$ мВ и $+145 \pm 2$ мВ соответственно, а 5-фторурацил до $+164 \pm 4$ мВ.

Рассматривая полученные данные, можно прийти к выводу о наличии

определенной корреляции между данными, полученными при хемилюминесцентном анализе, отражающем интенсивность свободнорадикальных окислительных процессов, и результатами, полученными при изменении величины ОВП, отражающей состояние окислительно – восстановительного равновесия в организме (табл.1). Видно, что наблюдается отрицательная функциональная связь, то есть большим значениям уровня СХЛ соответствуют меньшие значения величины ОВП.

Таблица 1. Корреляции между интенсивностью спонтанной хемилюминесценции и величиной окислительно-восстановительного потенциала

ПОП \ рН	6,5		7,0		7,4		8,0		г
	СХЛ	ОВП	СХЛ	ОВП	СХЛ	ОВП	СХЛ	ОВП	
Г	68±2		130±8		126±6		192±4		-0,98
		+175±4		+144±1		+141±5		+85±1	
5-Ф	57±2		101±4		103±4		161±7		-0,999
		+164±4		+129±1		+128±2		+76±5	
Ф	59±6		102±5		91±6		143±4		-0,989
		+157±7		+123±1		+122±1		+74±6	
Т	58±6		100±3		88±8		144±4		-0,98
		+151±5		+125±1		+125±4		+71±4	
Ц	64±6		102±5		103±3		147±17		-0,948
		+147±3		+127±3		+129±4		+62±5	
К	60±6		79±3		81±5		135±4		-0,999
		+145±2		+122±3		+123±3		+66±5	
С	65±4		91±3		93±3		148±2		-0,998
		+150±4		+125±4		+121±1		+64±5	

Примечание: ПОП - противоопухолевые препараты. Г - гомогенат мозга, 5-Ф - 5-фторурацил, Ф - фторафур, Т - тиофосфамид, Ц - циклофосфан, К - колхицин, С - сарколизин, г - коэффициент корреляции.

Таким образом, анализируя полученные данные, можно предположить, что все исследуемые нами ПОП угнетают процесс свободнорадикального ПОЛ и действуют на ОВП. Как нам кажется, ингибирующее действие противоопухолевых соединений на СХЛ и ОВП обусловлено наличием у изучаемых препаратов подвижных атомов водорода, играющих определенную роль в восстановительных процессах свободнорадикального окисления с последующим снижением их уровня. Следовательно, при обсуждении механизмов биологического действия вышеуказанных препаратов, необходимо учитывать и их возможную антиокислительную роль для защиты мембранных структур и поддержания равновесия между ПОЛ и биоантиоксидантами во время малигнизации. Полученные данные могут быть учтены при использовании ПОП в клинике и объяснении природы механизмов их действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Закарян А. Е., Цагикян А. Р., Погосян Г. П., Паносян Г. А. Биолог. журн. Армении, 43, 1, 51-54, 1990.
2. Карагулян Э. А., Гонян С. А., Паносян Г. А. Вопросы биологии, 4, 120-129, Ереван, 1984.
3. Напалков Н. П., Филов В. А., Ивин Б. А., Германович М. Л. Лекарственная терапия опухолей в эксперименте и клинике, Л., 1983.
4. Сумаруков Г. В. Окислительное равновесие и радиочувствительность организмов, М., 1970.
5. Хлебнов А. Медицинская газета, 37, спец. вып. 2, 6, 1997.
6. Hamann D., Heinrich H. Radiobiol. Radiother. (Berl.), 30 (6), 527-534, 1989.
7. Khadir A., Verreault J., Averill D. A. Arch. Biochem. Biophys., Oct. 15, 370 (2), 163-175, 1999.
8. Kuzmenko A. I., Morozova R. P., Nikolenko I. A., Donchenko G. V. Jablonski Centennial Cont. Luminescence and Photophys., Torun, 23-27 July, 1998, Book Abstr. - Torun, p. 172, 1998.
9. Oosthuizen Mathys M. S., Engelbrecht Maureen E., Lambrechts Nugo, Greyling Dredre, Levyard D. J. Bioluminescence and Chemiluminescence, 1, 6, 277, 1997.
10. Ray S., Chakrabarti P. Indian J. Exp. Biol., May, 37 (5), 439-443, 1999.

Поступила 08.IV.2002